

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



Líder en Ciencia y Tecnología

“Estudio de la extracción de los taninos de la semilla de mango de las variedades criollas, para la elaboración de un complemento alimenticio para aves de engorde y preparación de un tinte de curtiembre a partir de los taninos extraídos.”

AUTORAS:

**Tatiana Izdel García Castillo
Amanda Isabel Jarquin Medal**

MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO QUÍMICO

TUTOR:

MSc. Denis Escorcia Morales

Managua, Nicaragua 2015

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso y omnipotente, por darnos la vida, llenarnos de sabiduría, darnos paciencia y perseverancia para alcanzar nuestros logros.

A la empresa Burke agro S,A por proporcionarnos parte de la materia prima, para poder llevar acabo el estudio.

A nuestro querido tutor, MSc. Denis Escorcía Morales por brindarnos su apoyo, su tiempo y conocimiento en la realización de este estudio monográfico.

Al Lic. Cesar Quintero por su asesoría en el uso de equipos y análisis químicos.

A nuestras familias, amigos y todas aquellas personas que una u otra manera han contribuido con su apoyo moral, comprensión y paciencia durante la realización de este estudio.

DEDICATORIA

A Dios por darme la sabiduría necesaria para culminar mi meta.

A mis padres, *Norman Jarquín y Damaris Medal* por su apoyo, esfuerzo, orientación y motivación a lo largo de mis estudios.

A mi abuelita *Ana Luz Pérez* por su apoyo incondicional, comprensión y tenerme presente en sus oraciones.

A mis tías *Roxana Jarquín, Fabiola y Sobeyda Salas*, por estar dispuestas apoyarme en todo momento y motivación a salir siempre perseverante en la vida

A mi hermana *Rosa Anahis Jarquín* por estar conmigo a pesar de cualquier circunstancia.

Amanda Isabel Jarquín Medal.

DEDICATORIA

Dedico mi tesis a *Dios* sobre todas las cosas, por haberme dado sabiduría, paciencia y perseverancia para alcanzar estos logros.

A mi madre *Marlene Castillo Morales* y mi padre *Danilo García Molina* por su apoyo incondicional, soporte emocional, esfuerzo, sacrificio, comprensión, motivación a lo largo de esta etapa.

A mi papito *Jaime Castillo Molina* Q.E.P.D, por haberme brindado su apoyo incondicional para que pudiese alcanzar mis metas.

A mis hermanos *Danilo García Castillo* y *Víctor Hugo García Castillo* porque de alguna u otra manera estuvieron ahí brindándome su apoyo.

Tatiana Izdel García Castillo

CARTA DEL CATEDRÁTICO GUÍA

Estimados excelentes miembros del jurado calificador: El trabajo de tesis que tienen en sus manos titulado ***“Estudio de Extracción de taninos de la semilla de mango de variedades criollas y su aprovechamiento como tinte de curtiembre”***, es un estudio que se ha llevado a cabo de una manera consecutiva, El presente trabajo monográfico se llevó a cabo a nivel de laboratorio, se estudió por medio de dos métodos, la extracción de taninos contenida en la semilla de mango (*Manguífera indica*) de dos variedades criollas, Luego se llevó acabo la formulación de un concentrado para aves de engorde, considerando el complemento nutricional que presentó la mayor cantidad de proteínas y la mayor cantidad de taninos extraídos, ya que la proteína es esencial para la formación de tejidos musculares durante el crecimiento de las aves, y los taninos poseen un sabor astringente y reduce la palatabilidad de las dietas . La dedicación que las Bras. **Tatiana Izdel García Castillo y Amanda Isabel Jarquín Medal** realizaron en todo el desarrollo de su trabajo fue bien continuo e incansable, que las llevó a tener resultados muy bueno y positivo como es la *Extracción de taninos de la semilla de mango de variedades criollas*.

Por lo anterior expuesto y certificando la calidad y categoría del trabajo que han realizado las jóvenes tesistas solicito a ustedes la máxima calificación para este trabajo monográfico.

Aprovecho para reiterar mis más cordiales saludos y deseos de buena voluntad.

Se despide de ustedes.

Atentamente,

MSc. Ing. Denis Escorcía Morales
Profesor Guía

RESUMEN

El presente trabajo monográfico se llevó a cabo a nivel de laboratorio, se estudió por medio de dos métodos, la extracción de taninos contenida en la semilla de mango (*Manguifera indica*) de dos variedades criollas.

Inicialmente se realizó la caracterización bromatológica a las semillas de mango Rosa provenientes de la empresa Burke Agro S.A.¹ y mango Liso provenientes de mercados locales, con la finalidad de obtener datos porcentuales de la composición de dichas semillas, para luego compararlas con las semillas luego de los procesos de extracción de taninos.

Los métodos de extracción de taninos utilizados fueron maceración en etanol y extracción con agua, obteniendo un mejor resultado con la variedad Rosa en maceración con alcohol por 48h.

Posteriormente de la extracción de taninos a las harinas obtenidas se realizaron análisis bromatológicos centrándose en el contenido de proteínas, grasa, fibra, ceniza y humedad y nutrientes como el fósforo y calcio.

Para formular un concentrado para aves de engorde, se tomó en cuenta el complemento nutricional que presentó la mayor cantidad de proteínas y la mayor cantidad de taninos extraídos, ya que la proteína es esencial para la formación de tejidos musculares durante el crecimiento de las aves, y los taninos posee un sabor astringente y reduce la palatabilidad de las dietas. Resultando ser el complemento más apto, el del cotiledón rosa macerado en alcohol durante 48 horas.

Por ultimo con los taninos extraídos con alcohol, se procedió a destilar el solvente para obtener un concentrado de ácido tánico como tinte de curtiembre.

¹ Burke Agro S.A: Ubicada en San Marcos, de los semáforos de San Marcos, 1 Km al sur, 400 metros abajo. Se dedica a transformar frutas frescas (mango, banano, piña y pitahaya) en fruta deshidrata y pulpa de frutas. Sus productos son con fines de exportación y utilizan energía renovable para sus procesos.

TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	i
DEDICATORIA	ii
CARTA DEL CATEDRÁTICO GUÍA	iv
RESUMEN.....	v
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	2
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
III. MARCO TEÓRICO	4
3.1. El mango	4
3.2. Taninos.....	5
3.2.1. Clasificación.....	5
3.2.2. Características	6
3.2.3. Aplicaciones.....	7
3.2.4. Métodos de extracción de taninos	8
3.2.5. Métodos de cuantificación de taninos	9
3.3. Alimentación de aves de engorde	10
3.4. Métodos de formulación de raciones alimenticias	13
IV. METODOLOGÍA.....	15
4.1. Materiales.....	15
4.1.1. Materia prima	15
4.1.2. Reactivos	15
4.1.3. Equipos y Cristalería.....	15
4.2. Métodos.....	17
V. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	19
5.1. Caracterización de la semilla de mango.....	19
5.2. Extracción de taninos por método de extracción con agua y maceración en alcohol.....	20
5.2.1. Análisis estadístico	23
5.3. Tinte para curtiembre	28
5.4. Aporte nutricional de las semillas de mango luego de la extracción de taninos.....	28
5.5. Formulación de concentrado para ave de engorde	33
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES.....	36
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	37
IX. ANEXOS.....	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 Equipo de separación manual y reducción de tamaño	16
Tabla 4.2 Equipos que se utilizaron para el estudio	16
Tabla 4.3: Cristalería que se utilizó para el estudio	17
Tabla 4.4. Factores a estudiar con sus respectivos niveles de estudio y variable de respuesta para el método de extracción con alcohol.....	18
Tabla 4.5: Factores a estudiar con sus respectivos niveles de estudio y variable de respuesta para el método de extracción con agua	18
Tabla 5.1 Caracterización de las semillas de mango	19
Tabla 5.2 Porcentaje de taninos extraídos por el método de extracción con agua	20
Tabla 5.3. Porcentaje de taninos extraídos por maceración con alcohol.....	21
Tabla 5.4. Diseño de experimento extracción por agua	23
Tabla 5.5 Análisis de Varianza para media extracción con agua	23
Tabla 5.6. Diseño de experimento extracción por Etanol	24
Tabla 5.7 Análisis de Varianza para media extracción con alcohol	25
Tabla 5.8. Análisis bromatológico de la semilla de mago rosa luego de la extracción de taninos con agua	28
Tabla 5.9. Análisis bromatológico de la semilla de mago liso luego de la extracción de taninos con agua	29
Tabla 5.10 Análisis bromatológico de mango rosa luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol	30
Tabla 5.11 Análisis bromatológico de mango liso luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol	31
Tabla 5.12 formulación de concentrado para aves	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1: componentes de la semilla de mango	4
Figura 5.2: Moléculas de los taninos hidrolizables	6
Figura 5.1. Gráfica de composición de las semillas de mango	20
Figura 5.2. Gráfica de porcentajes de taninos extraídos por el método de extracción con agua	21
Figura 5.3. Gráfica de porcentajes de taninos extraídos por maceración con alcohol	22
Figura 5.4. Gráfica de comparación de los métodos de extracción de taninos...	22
Figura 5.5 Diagrama de Pareto de los efectos del método de extracción con agua	24
Figura 5.7 Diagrama de Pareto de los efectos del método de extracción por alcohol	25
Figura 5.8 Gráfica de cubo de los efectos del método de extracción por alcohol	26
Figura 5.9 Caracterización semilla de mango rosa rosa luego de la extracción de taninos con agua	29
Figura 5.10 Caracterización semilla de mango liso luego de la extracción de taninos con agua	30
Figura 5.11 Caracterización semilla de mango rosa luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol	30
Figura 5.12. Caracterización semilla de mango liso luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol	31

I. INTRODUCCIÓN

El mango es una fruta de origen tropical que se consume principalmente fresco, sin embargo, existe una variedad de productos procesados a partir de dicho fruto tales como: almíbar, jugo, néctar, mermelada, entre otros. Para esto se utiliza principalmente la pulpa teniendo como desperdicios la cáscara y la semilla. El porcentaje promedio de desperdicio en el aprovechamiento de la fruta es de 12-15% en cáscara y 15-20% de semilla de mango. (Salunkhe, D. & Kadam, S., 1995)

En Nicaragua la empresa Burke Agro S.A.² procesa 14,000 frutas de mango diario, por temporada, de las cuales las semillas resultantes las utilizan únicamente para generar energía de proceso.

Sin embargo de todos los desechos, la semilla de mango ha atraído mayor atención para la industria de los alimentos ya que se han encontrado aplicaciones como sustituto de la manteca cacao para la elaboración de productos de confitería, (Tapia, M.; Pérez, B.; Cavazos, J. & Mayett, Y., 2013). El producto restante de la extracción de grasa, puede ser utilizado como sustituto del trigo o maíz en la formulación de alimento para animales (Nzikou, et al., 2010)

En el 2013 Arana. A, Portillo. J, Ríos. F & Bojórquez. S. determinaron el efecto de la inclusión de harina de germen de mango cruda (HGMC) en la producción y calidad de huevos de gallina. Para ello formularon dietas con 7.5% y 15% de HGMC, y una dieta sin HGMC a base de maíz y soya. Utilizaron 240 gallinas alojadas en jaulas o en pisos, en las pruebas en jaulas el consumo del alimento disminuyó al aumentar el nivel de HGMC, el peso del huevo no se modificó y se observó mayor tendencia a la fragilidad del cascarón. En la prueba en piso en consumo del alimento sin HGMC incremento, y el que contenía HGMC permaneció cercano al 5% del consumo diario. El peso de las gallinas y características de calidad del huevo no se modificaron. De esta manera lograron concluir que no es posible utilizar la harina de germen de mango cruda en la producción de gallina productora de huevo para consumo, debido a su alto contenido de taninos que confieren un efecto astringente, lo cual reduce la palatabilidad de las dietas. Por lo tanto, para el desarrollo de un complemento en la alimentación de las aves de engorde, a partir de dicha semilla, es necesario extraer previamente los taninos.

Por lo tanto, en este estudio se extraerán taninos por los métodos de extracción con agua y extracción con alcohol y luego se compararán los métodos de extracción según el porcentaje de taninos extraídos.

² Burke Agro S.A: Ubicada en San Marcos, de los semáforos de San Marcos, 1 Km al sur, 400 metros abajo. Se dedica a transformar frutas frescas (mango, banano, piña y pitahaya) en fruta deshidrata y pulpa de frutas. Sus productos son con fines de exportación y utilizan energía renovable para sus procesos.

Con los taninos extraídos se preparará un tinte para curtiembre, al complemento alimenticio obtenido se le realizarán los respectivos análisis bromatológicos para determinar el valor nutricional de éste.

Se formulará un concentrado para aves de engorde, utilizando el complemento nutricional obtenido, que presente los datos más aptos para la formulación.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Estudiar la extracción de los taninos de la semilla de mango de las variedades criollas, para elaborar un complemento alimenticio para aves de engorde y preparar un tinte de curtiembre a partir de los taninos extraídos.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar las semillas de mango de las variedades criollas, previamente a realizar la extracción de taninos.
- Extraer taninos de las semillas de mango por los métodos extracción con agua y maceración en alcohol.
- Comparar los métodos de extracción de taninos en un análisis estadístico.
- Preparar tinte para curtiembre a partir de los taninos extraídos.
- Determinar el valor nutricional del complemento alimenticio obtenido. por medio de análisis bromatológicos
- Formular un concentrado para aves de engorde, utilizando el complemento nutricional obtenido.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. El mango

El mango (*Mangifera indica* L.) es aparentemente originario del noroeste de la india y el norte de Birmania en las laderas del Himalaya y posiblemente también de Ceilán (MAG-Costa Rica, 2012). Pertenece a la familia botánica de las Anacardiáceas (Anacardiaceae), es una de las frutas tropicales de mayor consumo fresco en el mundo.

Es un cultivo perenne de floración estacional, cuyos árboles jóvenes inician su producción generalmente entre el tercer y cuarto año dependiendo de la variedad (Terranova, 1995).

El árbol crece hasta 15 m de altura y forma una amplia copa con numerosas ramas altas y abiertas (INCA, 2004)

El fruto clasificado como una drupa que encierra una semilla aplanada rodeada por una cubierta leñosa (Avilan, L. & Rengifo, 1990) es de forma muy variable, pero generalmente es ovoide, oblonga o arriñonada, a veces redondeada u obtusa en ambos extremos, de 5 a 15 cm de longitud.

El semilla del fruto de mango se compone a como se muestra en la figura 5.1

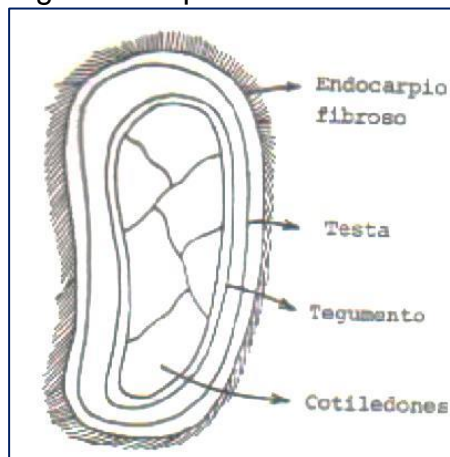


Figura 3.1: componentes de la semilla de mango

Las propiedades organolépticas del fruto como: color, aroma, sabor y olor de la pulpa tienden a presentar versatilidad dependiendo de la variedad del mango.

Entre las variedades de mango en Nicaragua se encuentran principalmente los tipos llamados "Criollos"; los cuales incluyen los mangos "Mechudos" caracterizados por una gran cantidad de fibras dentro de la pulpa. Otras variedades locales son los mangos "Lisos", "Rosas", "Carañas" y "Chinos" (Barbeau, G., 1990).

Actualmente las variedades multiplicadas a nivel comercial, tanto para consumo fresco como para uso industrial provienen de selecciones en Florida. Entre estas encontramos Mulgoba, Haden, Davis Haden, Springfield, Zill, Tommy Atkins, Julie, Keitt, Kent, Baptiste, Sentation, Irwin, Manila, Cambodiana, Lancetilla, etc (Barbeau, G., 1990).

De acuerdo al destino de producción:

- Para consumo fresco local: todas las variedades tienen aceptación, sin embargo predominan las variedades “Mango Rosa”, “Mango verde liso”, Springfield, Keitt y Kent.
- Para exportación como fruta fresca: se recomiendan las variedades de tamaño mediano y fuerte coloración, por ejemplo; Tommy Atkins, Zill, Haden, Sentation, Irwin.
- Para industrias de transformación en jugos y néctares: Chinos, Haden, Baptiste, etc.

En la semilla o hueso del mango se ha encontrado una importante actividad antioxidante, inclusive más alta que en la pulpa misma (Ribeiro, S., Barbosa, L., Queiroz, J., Knödler, A. & Schieber, 2008)

Además, por su perfil de lípidos el aceite de la semilla del mango puede ser empleado en confitería y en la elaboración de cosméticos (Alvarez, C., 2004)

3.2. Taninos

3.2.1. Clasificación

La semilla de mango posee cantidades altas de taninos. Los taninos son compuestos polifenólicos de diversas estructuras químicas, de altos pesos moleculares y capaces de curtir pieles. Son metabolitos secundarios de las plantas que cumplen una función protectora contra el ambiente.

La fórmula $C_{14}H_{14}O_{11}$, considerada como la del tanino común, es sólo aproximada, ya que son polímeros muy complejos. Existen categorías de taninos clasificados, basándose en su vía de biosíntesis y sus propiedades químicas: los taninos condensados y los taninos hidrolizables (pirogálicos).

Entre los taninos hidrolizables se distinguen los taninos gálicos. Son polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico, y azúcares simples. Son más pequeños que los taninos condensados y son hidrolizados con más facilidad,

En cuanto a los taninos condensados estos tienen una estructura similar a los flavonoides y carecen de osas en sus moléculas; se destacan los catéquinos, leucoantocianos o procianidoles (Paladino, S., 2008). En el caso de las semillas

de mango, estas están conformadas por taninos condensados (Arana, L.; Portillo, J.; Rios, F. & Bojórquez, S., 2012).

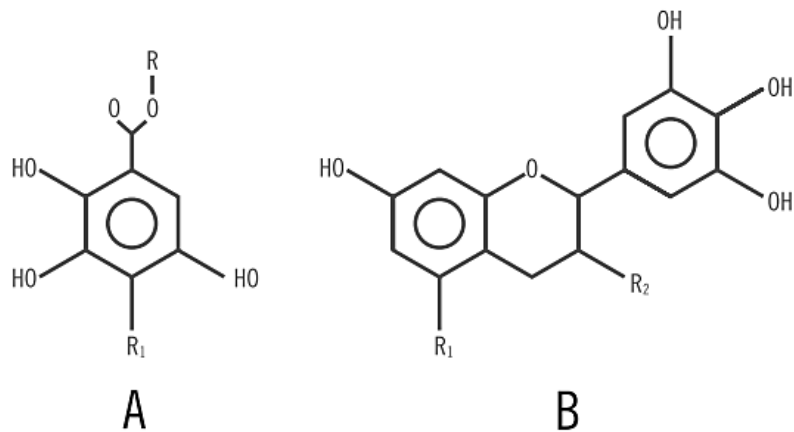


Figura 5.2: Moléculas (A) de los taninos hidrolizables (galoil) y (B) condesados (flavan-3-ol). Fuente: (Nogueira, S., 2011)

Arana, Rios & Bojórquez (2012) Indican que la limitación que tiene las harinas de germen de mango son los altos niveles de taninos, por lo que requiere de dar tratamiento previo a ser incluida en las dietas, con niveles máximos de 5 a 10 por ciento.

Jaramillo, M. (2004) afirma que estudios conducidos en Hámster han mostrado que el suministro de 4% de taninos condensados ocasiona una alta toxicidad y como consecuencia la mortalidad, cuando se incluyen en la alimentación de aves, por lo que contenido de taninos en concentrados para aves debe de ser menor al 4%

3.2.2. Características

Los taninos son capaces de precipitar proteínas a partir de sus disoluciones acuosas (Hemingway, R. & Laks, P., 1992).

Pueden encontrarse en diversas partes de la planta tales como: tallos, hojas, maderas, semillas, raíces. Poseen un sabor astringente, este efecto astringente es causado por la unión y precipitación de proteínas por los taninos condensados.

Según Álvarez y Lock (1992) afirma que entre las principales características de los taninos se encuentra que:

- ✓ Son compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales y de reacción ácida.
- ✓ Con sales férricas dan color azul oscuro y verdoso.
- ✓ Precipitan con gelatina, albumina y alcaloides en solución.

- ✓ Producen un color rojo intenso con ferrocianuro de potasio y amoníaco.
- ✓ Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a la enzimas proteolíticas. Su habilidad para precipitar proteínas es lo que lo hacen compuestos efectivos para la curtiembre.
- ✓ Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden su efectividad para el curtido.
- ✓ Tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente.

3.2.3. Aplicaciones

Entre las aplicaciones que tienen los taninos se pueden mencionar (Álvarez, C. & Lock, O., 1992) :

- ✓ Tratamiento para la diarrea: La acción astringente de los taninos contrae los tejidos y seca las secreciones, ayudando a detener la diarrea.
- ✓ Antioxidantes: Ayuda a eliminar los radicales libres, previniendo la aparición de enfermedades degenerativas como el cáncer.
- ✓ Antibacterial: Los taninos cumplen la función de un cicatrizante ya que no le brinda a los microorganismos el medio adecuado para que se pueda dar su desarrollo y reproducción, acelerando de esta manera la curación de las heridas.
- ✓ Antídoto contra veneno: El ácido tánico se utiliza como antídoto contra veneno para precipitar las sustancias venenosas de los alcaloides y ciertas sales metálicas.
- ✓ Curtiembre: Los taninos se utilizan en la industria de la curtiembre por su capacidad para curtir pieles, ya que eliminan el agua de las fibras musculares.

Materias curtientes son aquellas sustancias que tienen la propiedad que sus soluciones, al ser absorbidas por las pieles de los animales, las transforman en cueros. Las buenas características del material curtiente, se determina en el color que le va a transmitir a los cueros un vez finalizado el proceso de industrialización, la calidad resultante y la facilidad que tengan durante el curtido de formar ácidos, ya que su intervención es primordial en un buen acabado del trabajo (Franket, A., 2000).

El curtido vegetal es tan antiguo como la historia del hombre y aun se remonta a la prehistoria. Surgió, como tantos otros avances, por la observación que puso en evidencia que si una piel cruda entraba en contacto con la corteza, madera u hojas de ciertas plantas, aquella se manchaba y esas partes aparentemente dañadas, resultaban favorecidos al quedar indemnes a la putrefacción. Con el tiempo comenzó el desarrollo de la industria del cuero basada en la utilización de taninos que eran producidos por una gran variedad de vegetales y que permitían

su aplicación con relativa sencillez. Este sistema de curtido vegetal fue la norma en la producción de cueros curtidos hasta que se inició la industria del curtido al cromo (Álvarez, C. & Lock, O., 1992)

El curtido vegetal permite la conservación de la fibra del cuero y le incorpora ciertas características de morbidez al tacto y elasticidad que son consecuencia de los materiales y de los métodos de trabajo que se emplean.

El procedimiento para extraer los taninos comienza con la molienda, para reducir el tamaño de partícula y así aumentar su superficie de contacto y que la extracción sea más eficaz.

Luego se procede a la extracción, sea cual sea el método utilizado, la extracción da como resultado un líquido concentrado oscuro con impurezas no tánicas. Posteriormente, se procede a destilar el líquido de manera que resulte un concentrado de ácido tánico. El proceso de destilado consiste en poner la muestra en un balón a una temperatura no mayor de 100 °C y calentar hasta que todo el solvente se haya eliminado y obtener la concentración deseada.

3.2.4. Métodos de extracción de taninos

Los taninos poseen un comportamiento ácido en soluciones acuosas, por lo que son solubles en agua, alcohol etílico, acetona diluida y parcialmente solubles en glicerol y acetato de etilo.

La extracción con solventes, generalmente conocida como extracción sólido líquido, consiste en recuperar compuestos solubles, donde los compuestos pasan de una matriz sólida (solute) a una matriz líquida (solvente). Los disolventes más utilizados son agua, etanol, metanol y acetona.

El etanol y el agua son los disolventes más utilizados para extraer fotoquímicos de las plantas gracias a la ausencia de toxicidad y son aceptados por la FDA³ como solvente de grado alimenticio. (Pitchaon, M. & Gordon, M., 2009)

La extracción con alcohol etílico consiste en poner a macerar las muestras vegetales a temperatura ambiente en 500 ml de alcohol etílico al 95%. Rosales, Galindo y Gonzáles (2002) sugieren que la maceración de muestras de corteza vegetal se dé durante un periodo de 48 horas.

La extracción con agua consiste en colocar 50 gramos de muestra en 500 ml y calentar a temperatura de ebullición durante una hora (Rosales, M.; Galindo, A. & González, R, 2002)

³ FDA (Food and Drug Administration): Agencia de alimentos y medicamentos, del gobierno de los Estados Unidos, responsable de la regulación de alimentos, medicamentos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados (tanto para personas como para animales).

3.2.5. Métodos de cuantificación de taninos

Para cuantificar el porcentaje de taninos en una muestra debe de tenerse en cuenta el tipo de muestra, el tipo de taninos y sobre todo la disponibilidad de reactivos y equipos.

Estos métodos para cuantificar se basan en tres propiedades de los taninos (Giron, J., 2012):

- Habilidad de precipitar proteínas y alcaloides
- Reactividad de sus anillos fenólicos
- Productos de su despolimerización

Dentro de los métodos cuantitativos se tienen:

- Absorción de columna de piel en polvo: Este método se basa en la habilidad de los taninos de precipitar proteínas. Consiste en hacer pasar una solución tánica a través de una columna de piel, con el fin de que los taninos se adhieran a las proteínas del tejido. La cantidad de taninos absorbidos por la columna de piel es determinada pesando la piel antes y después de la absorción de la solución tánica, seguidamente se efectúa la resta de los valores obtenidos y dicho valor corresponde a la cantidad de taninos absorbidos (Giron, J., 2012)
- Difusión en Gel: Se prepara un gel de albúmina de suero bovino y se introduce en una cápsula, se forma un agujero central en el cual se deposita la muestra a analizar. La difusión de los taninos en el gel provoca una precipitación radial de la proteína de la albúmina, y el alcance que esta precipitación tenga será directamente proporcional a la concentración de taninos en el extracto (Giron, J., 2012)
- Lowenthal – Titulación con permanganato: El método de Lowenthal es un método cuantitativo para la determinación de taninos, el cual se basa en la oxidación de fenoles por medio de una solución de permanganato de potasio en presencia de índigo carmín que actúa como un indicador redox que muestra el punto final.

Este método fue utilizado en la Estación Científica Long Ashton⁴ desde 1903 hasta el cierre de las secciones de Sidra en la década de 1980.

Con este método las muestras son analizadas añadiendo 1 ml de la muestra y 5 ml de índigo carmín en un matraz de 500 ml, luego se deben de añadir

⁴ Long Ashton Research Station (LARS) era un centro de investigación agrícola y hortícola del gobierno en la aldea Long Ashton cerca de Bristol, Reino Unido. Fue creado en 1903 para estudiar y para mejorar la industria de la sidra

200 ml de agua. Posteriormente se procede a titular con la solución de permanganato de potasio hasta que el color azul cambie a verde claro, luego titular gota a gota hasta que el color verde cambie a amarillo. A los ml de permanganato de potasio gastados se les llamará “Xml”, para realizar los cálculos posteriores.

También se debe prepara un blanco de titulación utilizando solamente índigo carmín y los 200 ml de agua, también se debe de llevar a cabo la titulación hasta que la solución cambié de azul a verde y luego a amarillo. El valor de los mililitros gastados de permanganato de potasio debe de ser de 1 ml y se le llamará “Yml”.

Para calcular la cantidad de taninos presente en la muestra se debe de utilizar la siguiente ecuación:

$\% \text{ total de taninos} = (X - Y)/10$ Expresado como equivalentes de ácido tánico.

Las soluciones utilizadas en el análisis son sensibles a la luz y a la oxidación, por lo que deben de ser preparadas el mismo día de que deseen utilizar.

Para preparar la solución de KMnO_4 (0.005M) se deben de disolver 0.79 gr de KMnO_4 en un litro de agua.

Para prepara la solución de índigo carmín al 0.1% se debe de disolver un gramo de índigo de carmín en un litro de agua, la cual debe de tener 50 ml de ácido sulfúrico concentrado.

3.3. Alimentación de aves de engorde

Las necesidades proteicas dependen básicamente del peso del pollo, ya que la deposición proteica disminuye con la edad (y aumenta la deposición de grasa). Un déficit proteico provoca un menor crecimiento y una mayor deposición de grasa; además, el déficit proteico suele dar lugar a la aparición de fenómenos de canibalismo entre los animales jóvenes.

El desarrollo corporal de los pollos, como en el resto de especies, es más rápido cuanto mayor es el consumo diario de energía. Aunque el animal tiende a regular la ingestión de energía de manera que esta sea constante sea cual sea la concentración energética del pienso, a elevadas concentraciones energéticas se fuerza la cantidad de energía ingerida por el pollo; por este motivo, la concentración óptima de las dietas para pollos es elevada, en torno a los 13.0 MJ EM/kg (Quintero, L., 2005)

La utilización de un corrector vitamínico de alta calidad es fundamental en la elaboración de piensos de pollos, ya que la síntesis intestinal de vitaminas hidrosolubles es mínima.

La utilización de aromatizantes y saborizantes no tiene sentido pues estos animales prácticamente carecen de gusto y olfato. Respecto a los aditivos mejoradores de la digestión, se suelen añadir β -glucanasas en los piensos que contienen una alta proporción de cebada; también es cada vez más frecuente la utilización de fitasas para mejorar la utilización del fósforo vegetal. Además, se suelen añadir emulsionantes en los piensos de iniciación y, si se utilizan grasas saturadas, en los de crecimiento.

La crianza de aves, ha sido una actividad que el hombre ha venido desarrollando desde hace mucho tiempo, razón por la cual las aves están en primer lugar en la producción pecuaria además por ser poseedores de características como la digestión con mayor rapidez y su respiración y circulación son más aceleradas, su temperatura corporal es de 41°C, son las aves que crecen más rápidamente y maduran en corto periodo de tiempo. (Canaria, 2010)

En Nicaragua y el mundo, la producción avícola demanda grandes cantidades de granos como generadores de energía básica para la elaboración de raciones balanceadas. Sin embargo, en los sistemas actuales de producción avícola la provisión de alimento muchas veces amenaza el desarrollo de la misma, principalmente cuando se presentan variaciones en los costos y limitaciones en la disponibilidad de algunos ingredientes que necesitan ser importados y que requieren de divisas. En determinadas ocasiones, estos productos alcanzan precios muy superiores a los locales y muchas veces de mala calidad lo cual repercute negativamente en los índices productivos y en los costos de producción.

El alimento para pollos de engorde debe contener: mínimo de proteína 20%, contenido mínimo de grasa 3.5%, contenido máximo de humedad 12%, contenido máximo de fibra 4.5%, contenido máximo de cenizas 8% (Chacon, G., 1976)

Chacon (1976) considera como correcta la práctica de alimentación del pollo de engorde a como sigue:

- Alimento de primera edad (0-3) semanas), presentación en migajas o harina con un contenido de energía metabolizable por kg de 3,000 – 3,100 calorías y 22-23% de proteína.
- Alimento de segunda edad (3,5 y 6 semanas), presentación en migajas o harina con un contenido de energía metabolizable por kg de 3, 100 calorías y 21-22% de proteína

- Alimento de tercera edad después de la sexta semana, presentación en migajas o harina 3,200 calorías de energía metabolizable por kg. Y 20-21% proteína.

-

La nutrición es una propiedad de los seres vivos, que consiste en el doble proceso de asimilación y desasimilación. Esta comprende los procesos de obtención. Ingestión, digestión, y absorción de los principios nutritivos contenidos en los alimentos e incluye además el transporte de estos a todas las células del organismo (Acosta,F., 1988).

La proteína es esencial para la formación de tejidos musculares durante el crecimiento de las aves. Las proteínas también pueden ser utilizadas como fuente de energía, el nivel de ellas en las aves generalmente sobrepasa el 20%. El porcentaje óptimo de proteína total de calidad adecuada, incluido en la ración depende del tipo de aves y del fin con que este alimentando las aves

Todas las vitaminas son importantes en la alimentación avícola, estas son A,C,D,E,K y complejo B. la función de muchas vitaminas no se conoce bien, pero se pueden medir las serias consecuencias que se lamentan, cuando los alimentos no las proporcionan en las cantidades necesarias.

Las vitaminas son sustancias que los animales utilizan en pequeñas cantidades necesarias para un correcto mantenimiento, crecimiento, producción y reproducción (Acosta,F., 1988).

El calcio y el fósforo son los macro minerales más importantes y los más esenciales para el desarrollo rápido de los pollos. En el parrillero, se reduce la necesidad de estos minerales así como crece el pollo. Algunos investigadores recomiendan que se retiren los minerales parcialmente o se complemente la dieta durante los últimos días.

Los minerales son compuestos inorgánicos que se encuentran en la fracción ceniza de todos los alimentos. Existen 16 elementos esenciales que deben suministrarse en los alimentos (Acosta,F., 1988).

Existen alimentos no tradicionales provenientes de los residuos de las agroindustrias, materia verde y además de residuos orgánicos que, mediante un proceso de manejo, los podemos utilizar en las diferentes dietas, conociendo sus valores nutricionales.

Gran parte del incremento de la demanda mundial de productos de aves de corral corresponde a los países en desarrollo. Este crecimiento de la industria avícola está ejerciendo un profundo efecto en la demanda de alimentos animales y materias primas.

Según la (FAO) ⁵ existen tres criterios principales que determinan el uso sistemático de un alimento en las dietas comerciales:

- i) debe estar disponible en cantidades económicas, incluso si su disponibilidad es estacional;
- ii) su precio debe ser competitivo en comparación con el de los alimentos principales,
- iii) su valor nutritivo debe ser conocido, incluido el contenido de nutrientes, la variación existente y la digestibilidad de los nutrientes.

3.4. Métodos de formulación de raciones alimenticias

Formular una ración consiste en hacer una lista de los alimentos y nutrientes que se debe de suministrar a un animal para satisfacer las necesidades fisiológicas del mismo. Para ello se debe de conocer los requerimientos del animal y el aporte nutritivo de cada uno de los alimentos que se desea utilizar para elaborar la ración (Gélvez, 2015)

Existen varios métodos para formular raciones, entre ellos: Prueba y error, ecuaciones simultáneas, cuadrado de Pearson y programación lineal.

- Prueba y error: Es uno de los métodos más empleados para balancear raciones debido, básicamente, a su facilidad en el planteamiento y operación. Manualmente está sujeto a la utilización de pocos alimentos y nutrientes. Sin embargo, cuando se utilizan hojas de cálculo, este método es bastante práctico, permitiendo balancear con 10 - 15 alimentos y ajustar unos 6 nutrientes (Trujillo, F., 1987)
- Método del cuadrado de Pearson: Permite mezclar dos alimentos que tienen concentraciones de nutrientes diferentes, para obtener la ración con las concentraciones deseadas. Según Gélvez (2015) para esto se deben de seguir los siguientes pasos:

Primero es necesario tener en cuenta que el contenido nutricional de uno de los alimentos deberá ser mayor que el requerido, mientras que el otro debe ser menor.

Se ordenan los datos restando el valor absoluto del contenido nutricional de cada uno de los alimentos con el contenido nutricional requerido, de esta manera se obtienen la parte a mezclar de cada alimento y se pasa a porcentaje.

Finalmente se saca el contenido nutriente ajustado, multiplicado el porcentaje de nutriente de cada alimento con el porcentaje de la parte a mezclar de cada alimento y se divide entre.

⁵ Por sus siglas en inglés: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)

- Método de ecuaciones simultáneas: Este método emplea el álgebra, utilizando ecuaciones lineales donde se representa mediante variables los alimentos, cuya solución matemática representa la ración balanceada.

Si se quiere ajustar tres nutrientes y una mezcla final, se tiene que utilizar cuatro alimentos y plantear un sistema de cuatro ecuaciones simultaneas (Gélvez, 2015).

IV. METODOLOGÍA

4.1. Materiales

4.1.1. Materia prima

Para el este estudio se trabajó con semillas de mangos de las variedades criollas (mango liso y mango rosa), las semillas de mango tipo rosa se obtuvieron de la empresa Burke Agro S.A⁶, mientras que las semillas de mango liso se adquirieron en los mercados locales.

4.1.2. Reactivos

Para la extracción de taninos con alcohol se utilizó alcohol etílico al 95 %, mientras que para la extracción con agua, se utilizó agua potable.

Una vez extraídos los taninos, se cuantificó la cantidad extraída de taninos, por medio del método de “Lowenthal- Titulación con permanganato”, para el cual se utilizaron los siguientes reactivos: Indigo carmín al 0.1%, agua destilada, agua potable, permanganato de potasio KMnO_4 (0.005M) y ácido sulfúrico (12M).

Se caracterizaron las semillas de mango de las variedades criollas, por medio de métodos bromatológicos y se determinó la composición del complemento alimenticio obtenido luego de la extracción de taninos por medio de los mismos métodos, para esto fue necesario: Éter etílico, éter de petróleo, sulfato de potasio p.a K_2SO_4 , sulfato de sodio p.a Na_2SO_4 , ácido sulfúrico (0.1N), hidróxido de sodio NaOH (40 o 50 %), hidróxido de sodio NaOH (0.1N), rojo de metilo (0.5% p/v) e hidróxido de sodio (0.13 M).

4.1.3. Equipos y Cristalería

En la tabla 4.1 están descritos los equipos que se utilizaron para separar manualmente los cotiledones y el endocarpio fibroso y los equipos para la reducción de tamaño.

⁶ Burke Agro S.A: Ubicada en San Marcos, de los semáforos de San Marcos, 1 Km al sur, 400 metros abajo. Se dedica a transformar frutas frescas (mango, banano, piña y pitahaya) en fruta deshidrata y pulpa de frutas. Sus productos son con fines de exportación y utilizan energía renovable para sus procesos

Tabla 4.1 Equipo de separación manual y reducción de tamaño

Equipo	Modelo	Descripción
Tijera de podar	-	Para cortar las semillas y posteriormente separar los cotiledones y endocarpio fibroso
Molino de dientes	-	Para reducir de tamaño los cotiledones
Picadora forrajera	-	Para reducir de tamaño el endocarpio fibroso
Homogeneizador Retsch	GM200	Para homogeneizar el producto obtenido

En la tabla 4.2 se pueden observar los equipos que se utilizaron tanto para la extracción como para los análisis bromatológicos

Tabla 4.2 Equipos que se utilizaron para el estudio

Equipo	Modelo	Descripción
Extractor para determinar fibra cruda VELP	Fiwe 6	Equipo para determinación de fibra cruda
Thermostatic Oven	M 710	Equipo para remover humedad de los cotiledones y endocarpio fibroso
Desecador	—	Para enfriar las muestra, luego de que salgan del horno
Plancha de calefacción CORNING	6795-620D	Para calentar la muestras, durante el método de extracción con agua
Balanza de precisión OHAUS	FD15	Para pesar las muestras de harina a analizar.
Balanza analítica Adventurer	AR2140	Para pesar los reactivos a utilizar
Mufla 6000 Furnace	F6010	Para realizar análisis de cenizas

La cristalería que se utilizó se muestra en la tabla 4.3

Tabla 4.3: Cristalería que se utilizó para el estudio

Descripción	Cantidad
Cuchillos	2
Beakers 500 ml	10
Papel aluminio	1
Probeta 200 ml	2
Pipeta	2
Matraz aforado	3
Bureta 25 ml	1
Elermeyer	4
Soporte universal	1

4.2. Métodos

Primero se caracterizaron las semillas de mango de las variedades criollas por medio de análisis bromatológicos aprobados por la A.O.A.C, (ver anexos capítulo IX)

Una vez recolectadas las semillas, se separaron manualmente los cotiledones y el endocarpio fibroso, el endocarpio fibroso se redujo de tamaño en una picadora forrajera y los cotiledones se redujeron de tamaño en un molino de dientes y seguidamente se pasaron por un homogeneizador.

Posteriormente se procedió a la extracción de tanino, para esto se utilizaron dos métodos:

1. Método de extracción con alcohol: consistió en poner a macerar las muestras en alcohol etílico al 95% , a temperatura ambiente.
2. Métodos de extracción con agua: consistió en calentar las muestras con agua a temperatura de ebullición.

La extracción de taninos se realizó por triplicado, con un diseño factorial 2^3 . Los factores a estudiar son:

- Variedad de mango
- Parte a utilizar
- Tiempo de extracción

Tabla 4.4. Factores a estudiar con sus respectivos niveles de estudio y variable de respuesta para el método de extracción con alcohol

Variables independientes	Niveles de los factores	
Variedad de mango	Rosa	Liso
Parte del mango a utilizar	Cotiledón	Endocarpio fibroso
Tiempo de extracción	24 horas	48 horas
Variable de respuesta	Unidad	
Cantidad de taninos extraídos	%	

Tabla 4.5: Factores a estudiar con sus respectivos niveles de estudio y variable de respuesta para el método de extracción con agua

Variables independientes	Niveles de los factores	
Variedad de mango	Rosa	Liso
Parte del mango a utilizar	Cotiledón	Endocarpio fibroso
Tiempo de extracción	30 minutos	60 minutos
Variable de respuesta	Unidad	
Cantidad de taninos extraídos	%	

Se compararon los métodos según la cantidad de taninos extraídos, por lo que fue necesario cuantificar los taninos; el método de cuantificación que se utilizó fue el método de “Lowenthal- Titulación con permanganato”.

Los datos obtenidos fueron interpretados por el método de análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor y las medias fueron evaluadas por la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% y tasa de error del 5 % de significancia utilizando el programa estadístico Minitab versión 17.

Se elaboró un tinte de curtiembre con lo obtenido en la extracción, destilando el líquido a una temperatura no mayor de 100°C.

Se determinaron los valores nutricionales del producto obtenido (luego de la extracción), por medio de los métodos bromatológicos aprobados por la A.O.A.C (ver anexo, capítulo IX)

Se formuló una ración alimenticia para aves de engorde utilizando el producto obtenido que presentó la mayor cantidad de proteínas y la mayor cantidad de taninos extraídos. Para esto se utilizó el método de prueba y error, (ver capítulo III)

V. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Caracterización de la semilla de mango

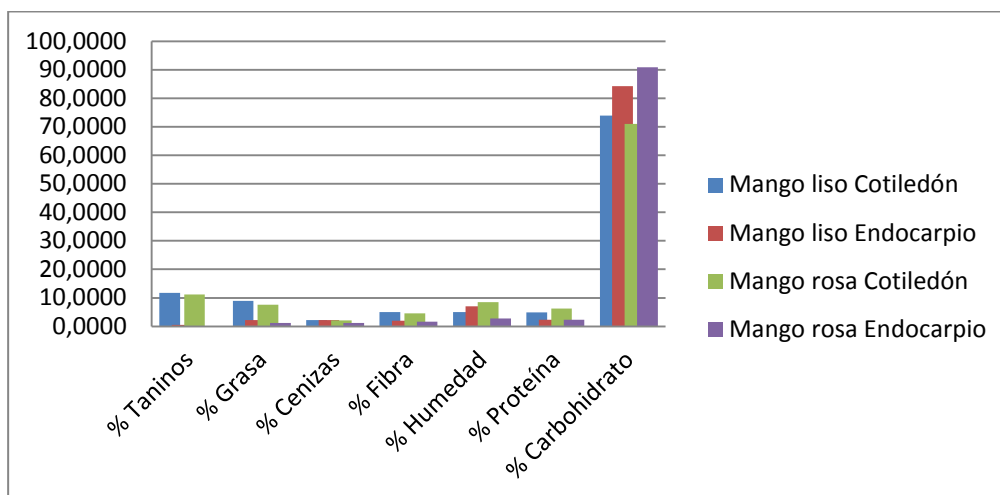
Se realizaron los respectivos análisis bromatológico obteniendo porcentajes de humedad, fibra, ceniza grasa, proteínas y carbohidratos, a su vez macronutrientes como el fósforo y calcio, a las semillas de mango de las dos variedades estudiadas, los resultados obtenidos son proporcionados en la tabla 5.1. No existen datos publicados sobre estas variedades de mango para su eventual comparación, sin embargo, según los datos obtenidos se pudieron comparar estas dos variedades criollas propias del país entre ellas.

Tabla 5.1 Caracterización de las semillas de mango

Variedad de mango	Mango liso		Mango rosa	
	Cotiledón	Endocarpio	Cotiledón	Endocarpio
% Taninos	11.7033	0.4900	11.1667	0.0933
% Grasa	8.9345	2.2598	7.6339	1.1737
% Cenizas	2.2115	2.1990	2.1484	1.1582
% Fibra	4.9868	1.9774	4.5641	1.6419
% Humedad	5.0000	7.0000	8.5000	2.7500
% Proteína	4.9100	2.3600	6.2100	2.3800
% Carbohidrato*	73.9572	84.2037	70.9437	90.8961
Taninos	11.7033	0.4900	11.1667	0.0933
Fósforo (mg/L)	3344.5889	891.3533	2919.1444	501.5178
Calcio (mg/L)	445.8333	392.7602	483.3333	304.9451

*El porcentaje de carbohidratos incluye el porcentaje de taninos

Figura 5.1. Gráfica de composición de las semillas de mango



5.2. Extracción de taninos por método de extracción con agua y maceración en alcohol

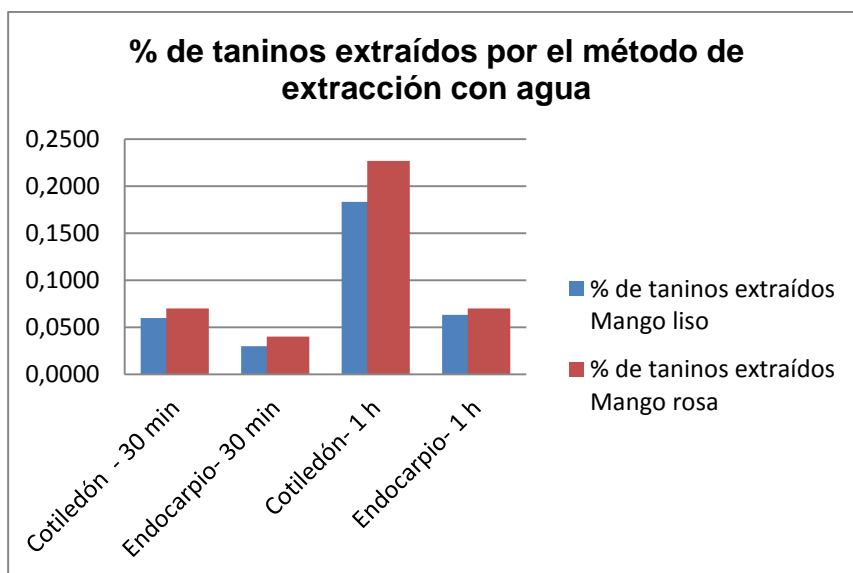
La extracción de taninos de cada una de las variedades de mango a estudiar, se llevó a cabo por los métodos de extracción con agua y maceración en alcohol. Se obtuvo como resultado diferentes porcentajes de taninos extraídos según la parte utilizada y la variedad de mango estudiada, los cuales se analizaron estadísticamente.

En la tabla 5.2 se muestran los % de taninos extraídos por el método de extracción con agua.

Tabla 5.2 Porcentaje de taninos extraídos por el método de extracción con agua

Parte de la semilla utilizada- tiempo de extracción	% de taninos extraídos	
	Mango liso	Mango rosa
Cotiledón - 30 min	0,0600	0,0700
Endocarpio- 30 min	0,0300	0,0400
Cotiledón- 1 h	0,1833	0,2267
Endocarpio- 1 h	0,0633	0,0700

Figura 5.2. Gráfica de porcentajes de taninos extraídos por el método de extracción con agua

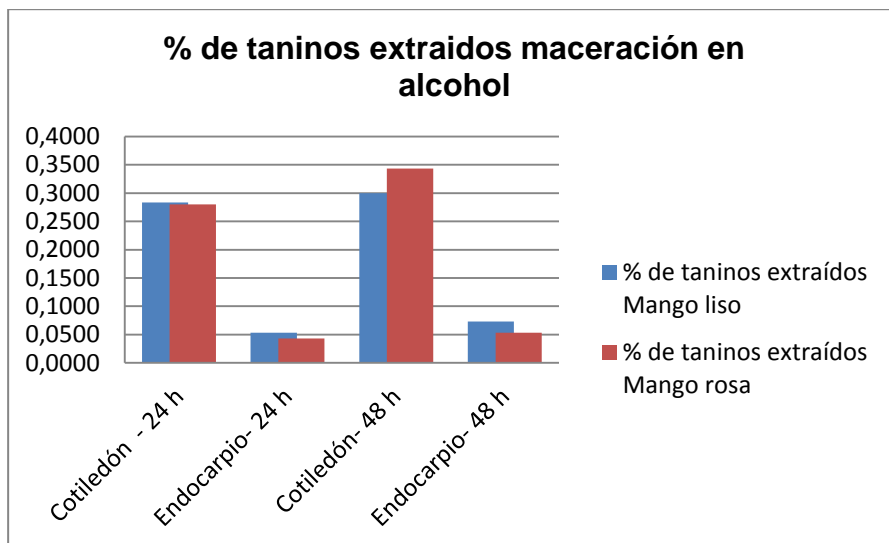


En la tabla 5.3 se muestran los % de taninos extraídos por el método de extracción de maceración en alcohol.

Tabla 5.3. Porcentaje de taninos extraídos por maceración con alcohol

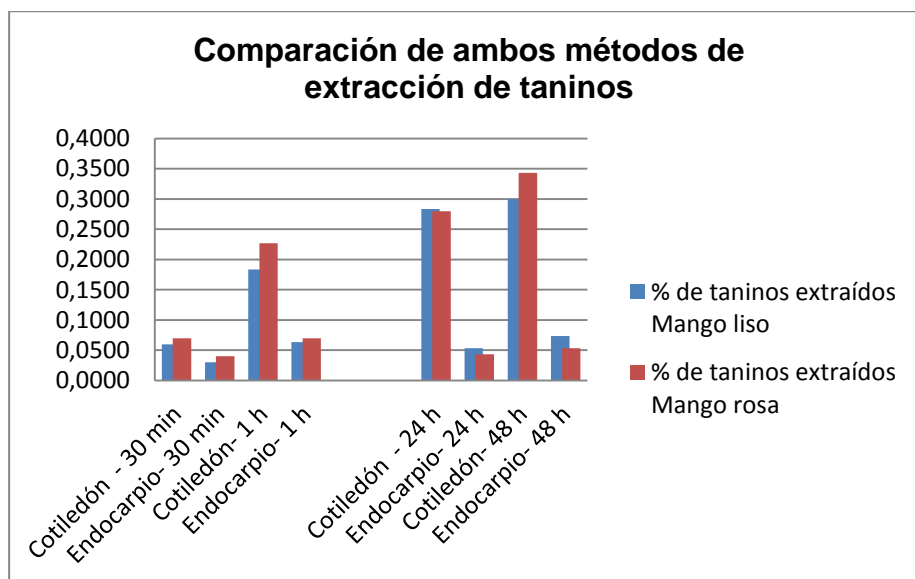
Parte de la semilla utilizada- tiempo de extracción	% de taninos extraídos	
	Mango liso	Mango rosa
Cotiledón - 24 h	0,2833	0,2800
Endocarpio- 24 h	0,0533	0,0433
Cotiledón- 48 h	0,3000	0,3433
Endocarpio- 48 h	0,0733	0,0533

Figura 5.3. Gráfica de porcentajes de taninos extraídos por maceración con alcohol



Al hacer una comparación entre ambos métodos de extracción se pudo observar que la mayor cantidad de taninos extraídos se obtuvo del cotiledón rosa, por medio del método de extracción con alcohol durante 48 horas. En la figura 5.4 se puede observar dicho comportamiento.

Figura 5.4. Gráfica de comparación de los métodos de extracción de taninos.



5.2.1. Análisis estadístico

En las siguientes tablas se muestran los porcentajes de taninos extraídos en cada método y la interpretación por el método de análisis de varianza (ANOVA).

Tabla 5.4. Diseño de experimento extracción por agua

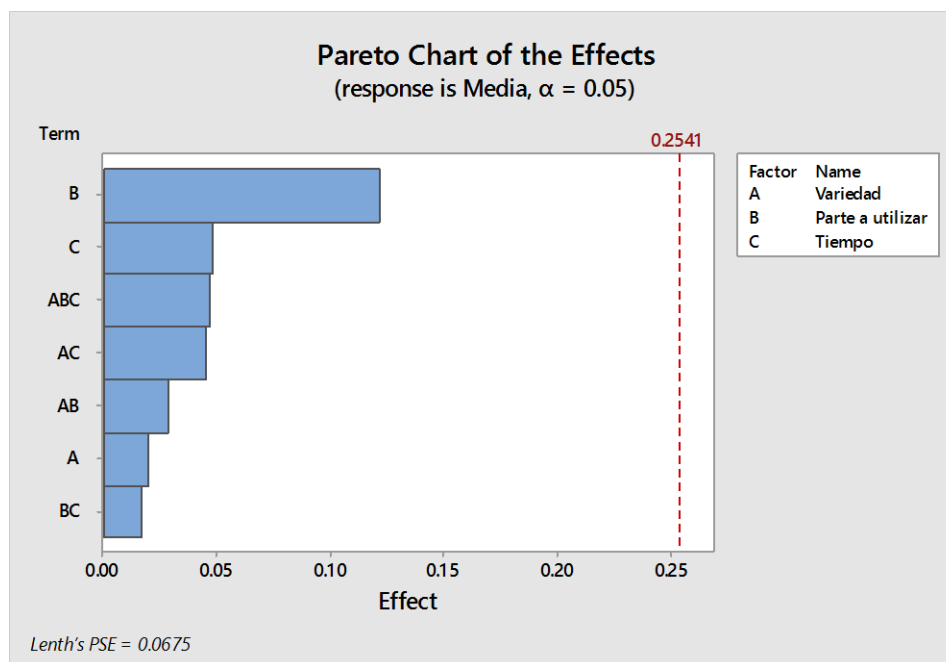
Variedad	Parte a utilizar	Tiempo	%Taninos		
			Replica 1	Replica 2	Replica 3
Rosa	endocarpio	30 Min	0.06	0.04	0.02
Liso	endocarpio	30 Min	0.01	0.05	0.03
Rosa	cotiledón	30 Min	0.06	0.08	0.07
Liso	cotiledón	30 Min	0.06	0.07	0.5
Rosa	endocarpio	1hr	0.04	0.09	0.08
Liso	endocarpio	1hr	0.05	0.09	0.05
Rosa	cotiledón	1hr	0.24	0.26	0.18
Liso	cotiledón	1hr	0.19	0.22	0.14

Tabla 5.5 Análisis de Varianza para media extracción con agua

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:variedad	0.00079998	1	0.00079998	0.18	0.7422
B:parte	0.0296056	1	0.0296056	6.80	0.2332
C:tiempo	0.00467221	1	0.00467221	1.07	0.4888
AB	0.00160555	1	0.00160555	0.37	0.6526
AC	0.00405005	1	0.00405005	0.93	0.5116
BC	0.000555561	1	0.000555561	0.13	0.7816
Error total	0.00435557	1	0.00435557		
Total (corr.)	0.0456445	7			

Al analizar los datos obtenidos indica que este caso ningún efecto comparado con su cuadrado medio contra un estimado del error experimental, tienen un valor-p menor que el nivel de confianza ($\alpha = 0.05$).

Figura 5.5 Diagrama de Pareto de los efectos del método de extracción con agua



Analizando el diagrama de Pareto ningún factor es significativo, es decir ninguna de los efectos en la extracción con agua, influye en la extracción de los taninos,

Tabla 5.6. Diseño de experimento extracción por Etanol

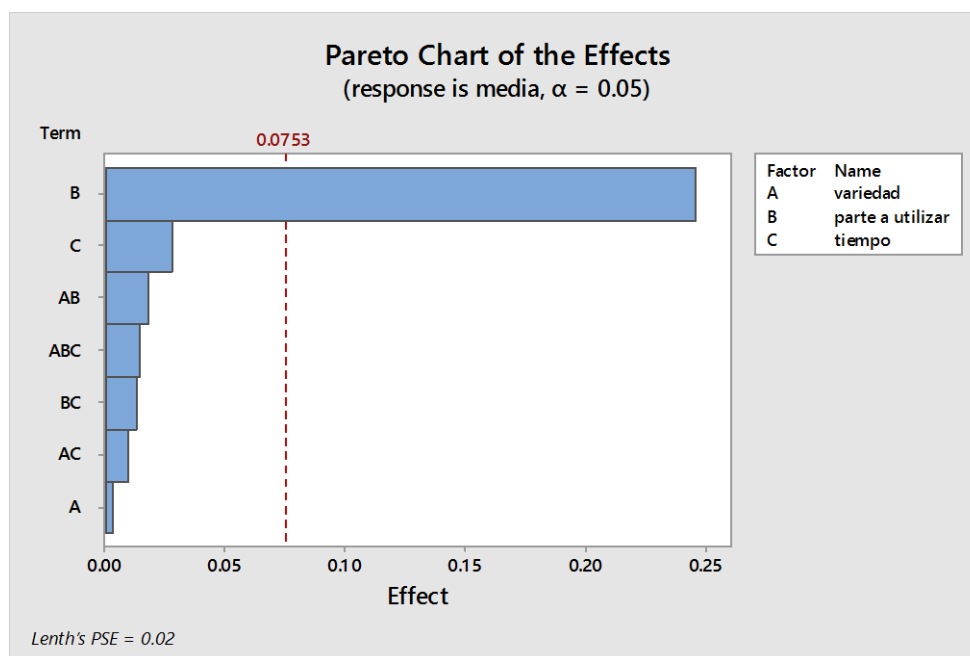
Variedad	Parte a utilizar	Tiempo	%Taninos		
			Replica 1	Replica 2	Replica 3
Rosa	Endocarpio	24hr	0.01	0.04	0.08
Liso	Endocarpio	24hr	0.00	0.1	0.06
Rosa	Cotiledón	24hr	0.25	0.37	0.22
Liso	Cotiledón	24hr	0.25	0.3	0.3
Rosa	Endocarpio	48hr	0.07	0.04	0.05
Liso	Endocarpio	48hr	0.06	0.08	0.08
Rosa	Cotiledón	48hr	0.28	0.38	0.37
Liso	Cotiledón	48hr	0.27	0.35	0.28

Tabla 5.7 Análisis de Varianza para media extracción con alcohol

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:variedad	0.0000125	1	0.0000125	0.03	0.8888
B:parte	0.120868	1	0.120868	301.13	0.0366
C:tiempo	0.0015125	1	0.0015125	3.77	0.3028
AB	0.0006125	1	0.0006125	1.53	0.4332
AC	0.000168049	1	0.000168049	0.42	0.6344
BC	0.0003125	1	0.0003125	0.78	0.5397
Error total	0.000401379	1	0.000401379		
Total (corr.)	0.123888	7			

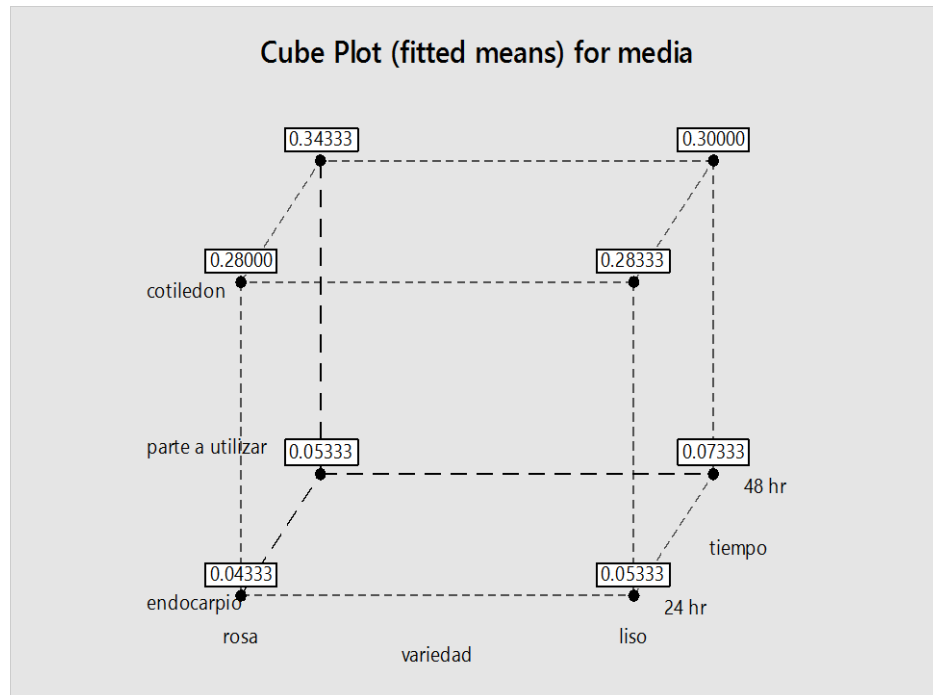
Al analizar los datos obtenidos indica que este caso, comparado con su cuadrado medio contra un estimado del error experimental, un efecto tiene un valor-p menor que el nivel de confianza ($\alpha = 0.05$) siendo significativamente diferentes de cero.

Figura 5.7 Diagrama de Pareto de los efectos del método de extracción por maceración en alcohol



Según el diagrama de Pareto un factor es significativo, es decir, que este influye en la extracción de los taninos por el método de extracción por alcohol, la parte a utilizar ha sido de gran relevancia, y la interacción *variedad – parte a utilizar*. En la gráfica de cubo se analizaron los datos de la extracción por maceración en alcohol, para conocer cuál de las partes, variedad y tiempo se obtuvo una extracción mayor de taninos

Figura 5.8 Gráfica de cubo de los efectos del método de extracción por maceración en alcohol



En esta grafica se observa que con la variedad roosa y la parte utilizada cotiledón a un tiempo de extracción de 48hr ha sido la que más aporato en la extracción de tanino para este método.

Se analizaron los datos de las medias de la extracción de taninos por maceración en alcohol por método de tukey.

One-way ANOVA: Replica 1, Replica 2, Replica 3

Method

$H_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

$H_1 = \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia $\alpha = 0.05$

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	2	0.01382	0.006912	0.37	0.694
Error	21	0.39024	0.018583		
Total	23	0.40406			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.136319	3.42%	0.00%	0.00%

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
Replica 1	8	0.1488	0.1241	(0.0485, 0.2490)
Replica 2	8	0.2075	0.1554	(0.1073, 0.3077)
Replica 3	8	0.1800	0.1273	(0.0798, 0.2802)

Pooled StDev = 0.136319

El valor p es mayor que el nivel de significancia (0.05) por lo tanto la hipótesis nula debe de ser rechazada y tenemos medias diferentes entre las muestras. Para corroborar lo anterior y validar cuál de las medias tiene mayor diferencia se hizo el método de Tukey el cual se detalla a continuación

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
Replica 2	8	0.2075	A
Replica 3	8	0.1800	A
Replica 1	8	0.1488	A

Means that do not share a letter are significantly different.

5.3. Tinte para curtiembre

En la extracción de los taninos para cada método utilizado, dio como resultado un líquido concentrado oscuro, para lo cual se procedió a destilar el solvente a una temperatura no mayor a los 100 °C de manera que quedo un concentrado de tánico.

Se utilizó, únicamente, el concentrado obtenido de la extracción con alcohol etílico, ya que este presentó un mayor aporte y concentración de taninos, en comparación a la extracción con agua.

5.2 Aporte nutricional de las semillas de mango luego de la extracción de taninos

Una vez obtenidos los taninos, se procedió analizar las muestras por medio de los métodos bromatológicos antes mencionados, para así evaluar el aporte nutricional que el subproducto brinda como complemento en la alimentación para aves de engorde. En las siguientes tablas y figuras se muestran los resultados obtenidos, expresados en porcentajes

Tabla 5.8. Análisis bromatológico de la semilla de mango rosa luego de la extracción de taninos con agua

Variedad de mango	Mango rosa			
	Cotiledón 30min	Endocarpio 30min	Cotiledón 1h	Endocarpio 1h
% Grasa	2.9944	1.1702	5.5880	0.8385
% Cenizas	2.0237	0.8702	1.6977	1.0025
% Fibra	4.5578	1.1847	3.9457	1.6133
% Humedad	6.0233	6.1925	5.9115	6.1240
% Proteína	5.8600	2.2400	5.6400	2.1800
% Carbohidratos *	78,5409	88,3424	77,2171	88,2416
Taninos	11.0967	0.0533	10.9400	0.0233
Fósforo (mg/L)	2481.8556	361.2211	2512.9222	470.6333
Calcio (mg /L)	369.2308	185.7143	296.5035	200.0000

*El porcentaje de carbohidratos incluye el porcentaje de taninos

Figura 5.9 Caracterización semilla de mango rosa rosa luego de la extracción de taninos con agua

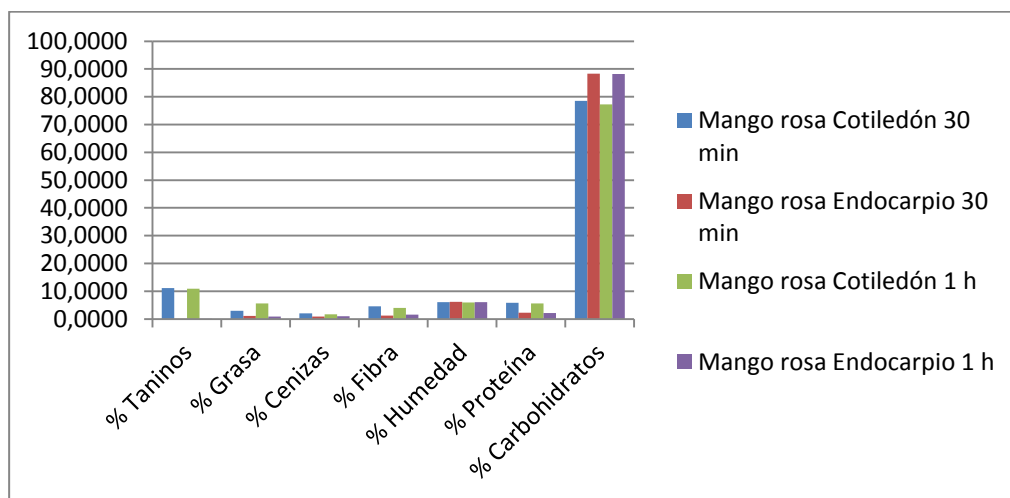


Tabla 5.9. Análisis bromatológico de la semilla de mago liso luego de la extracción de taninos con agua

Variedad de mango	Mango liso			
	Cotiledón 30min	Endocarpio 30min	Cotiledón 1h	Endocarpio 1h
% Grasa	3.1967	0.7890	6.0613	0.9809
% Cenizas	1.9263	3.6388	2.3822	2.3714
% Fibra	3.3585	1.4780	3.9457	1.0934
% Humedad	5.1652	6.7384	4.9125	7.8156
% Proteína	4.6200	2.2200	4.4100	2.1200
% Carbohidratos*	81,7333	85,1358	78,2884	85,6187
Taninos	11.6433	0.4600	11.5200	0.4267
Fósforo (mg/L)	2540.3000	462.2022	2422.6111	607.6989
Calcio (mg /L)	307.9692	177.2727	246.5035	304.9451

*El porcentaje de carbohidratos incluye el porcentaje de taninos

Figura 5.10 Caracterización semilla de mango liso luego de la extracción de taninos con agua

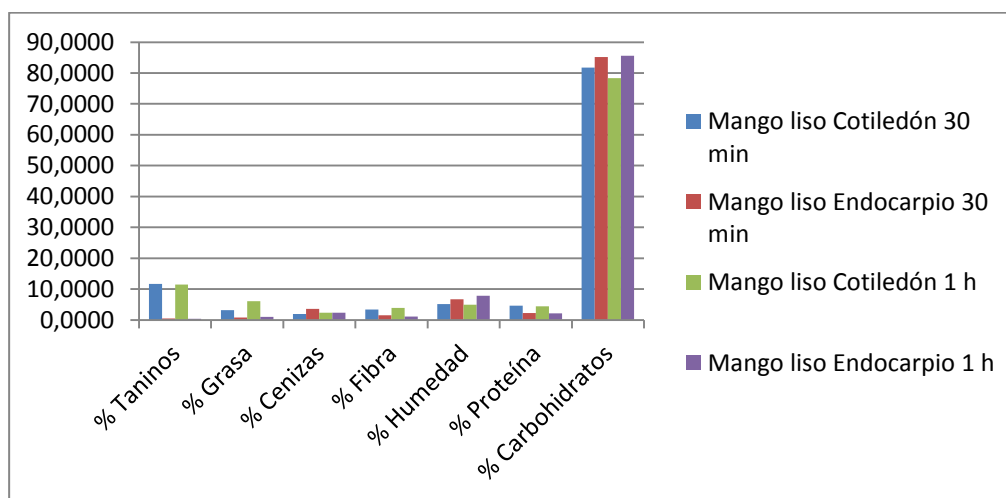


Tabla 5.10 Análisis bromatológico de mango rosa luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol

Variedad de mango	Mango rosa			
	Cotiledón 24h	Endocarpio 24h	Cotiledón 48h	Endocarpio 48h
% Grasa	6.6096	0.2414	3.9129	0.7062
% Cenizas	1.9281	0.8333	2.1980	0.4882
% Fibra	2.2736	1.1636	0.7384	1.4117
% Humedad	7.0576	8.5726	8.1658	9.0805
% Proteína	5.8300	2.2900	5.8900	2.2700
% Carbohidratos*	76,3010	86,8990	79,0948	86,0433
Taninos	10.8867	0.0500	10.8233	0.0400
Fósforo (mg/L)	1485.7333	329.0133	1641.2333	243.6200
Calcio (mg /L)	324.1758	177.2727	398.2143	204.5455

*El porcentaje de carbohidratos incluye el porcentaje de taninos

Figura 5.11 Caracterización semilla de mango rosa luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol

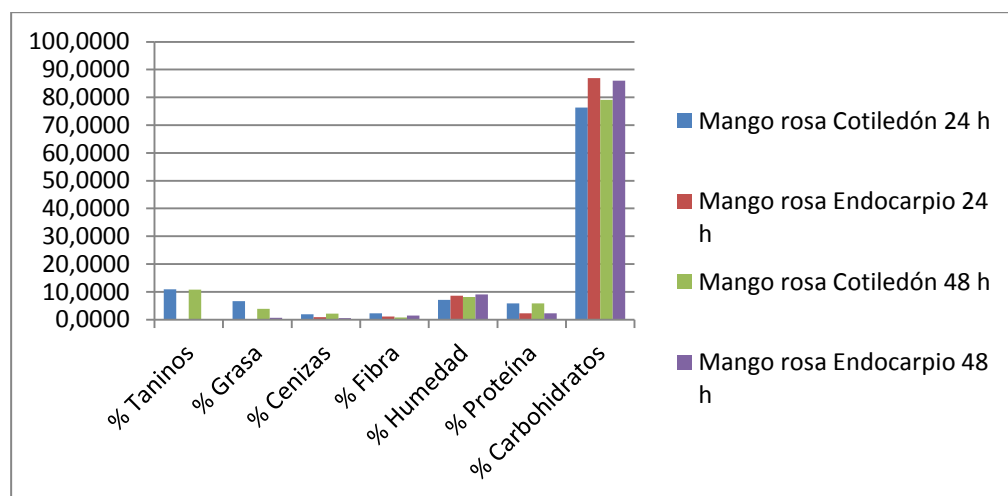
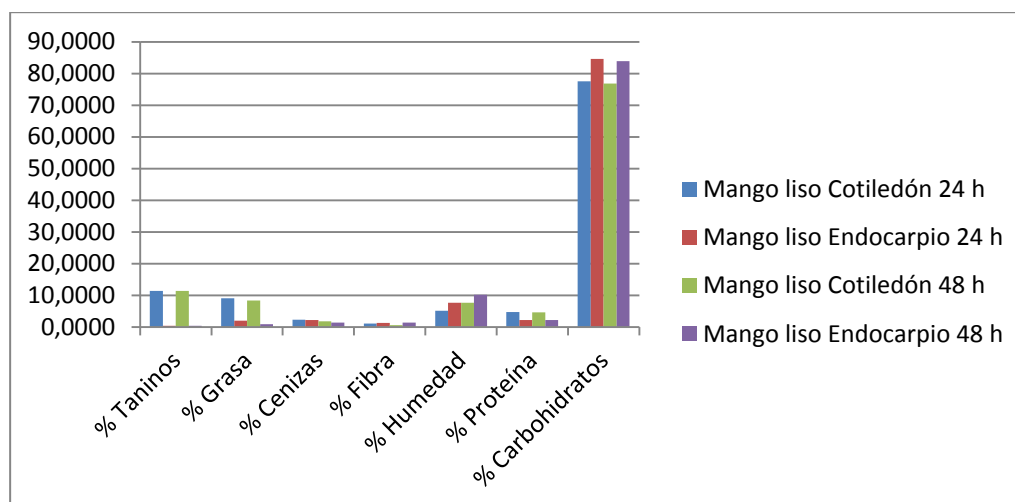


Tabla 5.11 Análisis bromatológico de mango liso luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol

Variedad de mango	Mango liso			
	Cotiledón 24 h	Endocarpio 24h	Cotiledón 48h	Endocarpio 48h
% Grasa	9.1016	1.9799	8.4133	0.9101
% Cenizas	2.3708	2.1930	1.8539	1.4082
% Fibra	1.0742	1.3502	0.6051	1.4098
% Humedad	5.1755	7.6444	7.6654	10.1885
% Proteína	4.7100	2.2600	4.6700	2.2300
% Carbohidratos*	77,5678	84,5725	76,7923	83,8534
Taninos	11.4200	0.4367	11.4033	0.4167
Fósforo (mg/L)	2022.7000	442.3100	2008.7111	466.3378
Calcio (mg /L)	269.2308	204.5455	436.0294	227.2727

*El porcentaje de carbohidratos incluye el porcentaje de taninos

Figura 5.12. Caracterización semilla de mango liso luego de la extracción de taninos por maceración con alcohol



5.4. Formulación de concentrado para ave de engorde

A pesar de que no se obtuvieron resultados positivos en cuanto a la extracción de taninos, para la formulación de un concentrado para aves de engorde, se utilizó la harina de mango que presentó la mayor cantidad de taninos extraídos y la mayor cantidad de proteínas, siendo la más apta el cotiledón del mango rosa obtenida luego de la maceración durante 48 horas, para extraerle los taninos.

Se eligió la que resultó con mayor cantidad de proteínas, ya que la proteína es uno de los nutrientes más importantes y el que más valor económico tiene a nivel comercial, además un déficit proteico provoca un menor crecimiento y una mayor deposición de grasa.

La harina de mango proveniente del cotiledón rosa obtenido luego de la maceración en alcohol durante 48, tiene un porcentaje de taninos de 10.82%, sin embargo a la hora de la formulación, utilizando únicamente 10% de harina de mango a como lo sugiere Arana (2012), el porcentaje de taninos aportado por parte de esta es apenas del 1.08% lo cual es aceptable para alimentación de aves, ya que Jaramillo, M. (2004) afirma que el porcentaje de taninos en los concentrados para alimentación de aves debe de ser menor al 4%.

Si la extracción de taninos hubiese sido eficiente, con un contenido final bajo en taninos, el porcentaje de harina de mango utilizado en la formulación hubiese sido mayor, sin embargo debido a que no se obtuvieron excelentes resultados, el porcentaje de inclusión de la harina de mango, para la formulación, fue apenas del 10%.

Para dicha formulación se tomaron en cuenta tres parámetros principales: fibra, proteína y grasa, basándose en los datos de Chacón (1976), quien sugiere que el contenido mínimo de proteína debe de ser del 20 %, contenido mínimo de grasa 3.5% y contenido máximo de fibra 4.5%.

Por otro lado también se tomó en cuenta el porcentaje de taninos, basándose en lo que afirma Jaramillo, M. (2004).

Para la formulación se eligieron como ingredientes: Soya, semolina de arroz, maíz amarillo, afrecho de trigo, sorgo rojo y cotiledón de mango rosa (obtenido después de la maceración a 48 h)

Según Vargas y Murillo (1978) los datos de proteína, grasa y fibra para los ingredientes son los siguientes:

Soya: 43.2% de proteína, 6.7% de fibra y 2 % grasa.

Semolina de arroz: 12% de proteína, 7.32% y 12.32% de grasa.

Maíz amarillo: 8.8% de proteína, 2 % fibra y 6% de grasa.

Afrecho de trigo: 16% de proteína, 15 % de fibra y 5.5 % de grasa

Sorgo rojo: 9.5% de proteína, 2 % de fibra y 3 % de grasa.

Se llevó a cabo la formulación utilizando el método de prueba y error previamente descrito en el capítulo 5, para ello se usó una hoja de datos en Excel donde se escribieron las respectivas ecuaciones, que básicamente consisten en una regla de tres, es decir si la soya tiene 43.2% de proteína, y se utiliza únicamente un 35% de soya para la formulación, el porcentaje proteico aportado se calcula de la siguiente manera:

100% - 43.2

35% - X

$$X = \frac{(35)(43.2)}{100} = 15.12 \% \text{ proteina aportada}$$

De igual manera se realiza el cálculo para los demás alimentos y nutrientes. Al final se suma el % aportado por cada alimento.

Tabla 5.12 formulación de concentrado para aves

Ingrediente	%	Proteína		Fibra		Grasa		Taninos	
		%	% aportado	%	% aportado	%	% aportado	%	% aportado
Soya	35	43.2	15.12	6.7	2.345	2	0.7		
Cotiledón mango rosa	10	5.89	0.589	0.74	0.074	3.91	0.391	10.82	1.082
Semolina de arroz	10	12	1.2	7.32	0.732	12.32	1.232	-	-
Maíz amarillo	16	8.8	1.408	2	0.32	6	0.96	-	-
Afrecho de trigo	4	16	0.64	15	0.6	5.5	0.22	-	-
Sorgo	25	9.5	2.375	2	0.5	3	0.75	0.5	0.125
Total	100		21.332		4.571		4.253		1.207

En la tabla 5.12 se puede observar que como resultado se obtuvo un concentrado con 21.33 % de proteína, 4.57% de fibra, 4.25% de grasa, 1.20% de taninos. Concluyendo que dicha formulación puede ser utilizada en la alimentación de aves, basándose en los parámetros establecidos por Chacón (1976).

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a la caracterización bromatológica de las semillas de mango (*Mangifera indica*) estudiadas se puede afirmar que de las partes analizadas la que más aporte fue la variedad de mango liso con porcentajes altos en grasa, fibra, cenizas, y un alto contenido en taninos, a su vez macronutrientes esenciales como calcio y fósforo en comparación con la del mango rosa. Sin embargo el mango rosa es el que posee el contenido más alto de proteínas, el cual es el componente principal para el engorde de aves.

Al comparar los métodos estudiados se observó que hay diferencias en la extracción, siendo la maceración en alcohol por 48 hr la que aportó más en relación al método de extracción con agua, sin embargo debido a la diferencia que existe en cuanto al porcentaje extraído por ambos métodos es mínima, se concluye que no hay diferencia significativa para los dos métodos estudiados.

Al analizar las muestras bromatológicamente después de extraer taninos, los datos con respecto a sus propiedades nutricionales antes de la extracción, no varían significativamente para cada parte de las semillas estudiadas.

A pesar que el complemento alimenticio proveniente del cotiledón de mango rosa macerado en alcohol durante 48, posee cantidades altas de taninos, se puede utilizar en la formulación de un concentrado para aves, utilizando como máximo un 10% de este complemento. Si se subiese extraído un mayor porcentaje de taninos, se hubiera podido incluir el complemento en una mayor proporción.

Aprovechando que las semillas contienen altos porcentajes de taninos, al ser extraídos, puede ser utilizado como una alternativa en la preparación de cueros como tintes de curtiembres.

VII. RECOMENDACIONES

A partir de la experiencia adquirida en el desarrollo del estudio de la remoción de taninos de dos variedades de semillas de mango, se sugiere evaluar los métodos de extracción con solventes diluidos, acetona-agua y alcohol etílico-agua, a diferentes condiciones de las brindadas en los métodos estudiados.

Evaluar el complemento alimenticio en aves de engorde.

Evaluar el poder de tintura y curtido que aporta los taninos extraídos, al cuero o material textil.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, F. (1988). *Nutrición de aves*. Habana, Cuba: Pueblo.
- Álvarez, C. & Lock, O. (1992). Taninos. *Revista de Química*, Vol. VI (num. 1), pp. 47-63.
- Alvarez, C. (2004). Obtención, caracterización y optimización del proceso de extracción de aceite de la semilla de mango. *Tesis Licenciatura; UNAM; Facultad de Química*. México D.F.
- Arana, L.; Portillo, J.; Rios, F. & Bojórquez, S. (2 de Noviembre de 2012). *Inclusion de la harina de germen mango cruda en la alimentación de gallina productora de huevo para consumo*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2014, de Avicultura: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/articulos/inclusion-harina-germen-mangp-t4325/141-p0.htm>
- Avilan, L. & Rengifo. (1990). El mango. *Caracas: Acribia*.
- Barbeau, G. (1990). Frutas Tropicales en Nicaragua. En *Ciencias Sociales*. Managua, Nicaragua.
- Canaria, U. d. (mayo de 2010). *Ulpgc*. Recuperado el 16 de enero de 2015, de <http://www.webs.ulpgc.es>: <http://www.webs.ulpgc.es/nutranim/index.html>
- Chacon, G. (1976). Avicultura. Colombia: Editora 2000.
- Cuervo, H. (1993). *Análisis de aguas y aguas residuales*. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.
- FAO. (s.f.). Disponibilidad de Piensos y Nutrición de Aves de Corral en Países en Desarrollo. *Revisión del Desarrollo Avícola*, p.5.
- Franket, A. (2000). Tecnología del Cuero. En A. M. Lacerca, *Curtición de Cueros y Pieles*. Uruguay.
- Gélvez, L. (2015). *Nutrición animal/ Formulación de raciones para animales*. Recuperado el 15 de Mayo de 2015, de Mundo Pecuario: http://mundo-pecuario.com/tema75/formulacion_raciones_para_animales/
- Giron, J. (2012). Reutilización de la salmuera en la etapa de salado del beneficio artesanal del maní (*Arachis Hypogaea* L.) y cuantificación del contenido tánico en la testa- episperma- de la semilla. *Al conferirse el título de Ingeniero Químico*. Guatemala.
- Hemingway, R. & Laks, P. (1992). Plants Polyphenols: Synthesis, Properties, Significance. p. 253.
- INCA, R. (2004). Manual tecnológico. *Frutales*, p.44.
- Jaramillo, M. (30 de abril de 2004). Sorgos graníferos altos en taninos condensados: significancia nutricional y factibilidad de uso en la alimentación de aves. *El Avicultor.com*, vol. 1(1), pp. 24-28.
- MAG-Costa Rica. (2012). Guía para el cultivo de mango (*Mangifera indica* L.). *Ministerio de agricultura y ganadería*, p.25.
- Nogueira, S. (2011). *Suplementación con mezcla comercial de taninos de quebracho y castaño en vacas lecheras*. Recuperado el 11 de octubre de 2015, de Universidad Católica de Argentina:

- <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/suplementacion-mezcla-comercial-taninos-quebracho.pdf>
- Nzikou, J., Kimbonguila, A., Matos, L., Loumouamou, B., Pamboutobi, N., Ndangui, C., et al. (2010). Extraction and Characteristics of Seed Kernel Oil from Mango (*Mangifera indica*). *Res.J. Environ. Earth*, vol. 2(num. 1), pp. 31-35.
- Paladino, S. (2008). *Actividad Antioxidante de Compuestos Fenólicos Contenidos en las Semillas de Vid (Vitis Vinifera L.)*. Trabajo de maestría, Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias, Mendoza, Argentina.
- Pitchaon, M. & Gordon, M. (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Journal food chemistry*, Vol. 117, pp. 332-341.
- Prieto, J.; Covarrubias, J.; Romer, A. & Figueroa, J. (2005). *Paquete tecnológico del cultivo de mango en el estado de Colima*. Recuperado el 17 de Febrero de 2015, de SEDER- México:
<http://seder.col.gob.mx/Paquetes/MANGO.pdf>
- Quintero, L. (20 de abril de 2005). *Engormix*. Recuperado el lunes de marzo de 2015, de Ergomix: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/alimentacion-pollos-consumo-promedio-t6517/141-p0.htm>
- Ribeiroa, S., Barbosab, L., Queirozc, J., Knödlerd, A. & Schieber. (2008). Phenolic compounds and antioxidants capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.). En *Varieties, Food Chemistry* (págs. pp. 620-626). Brazil.
- Rosales, M.; Galindo, A. & González, R. (2002). Taninos condensados en la corteza de *Pinus Chihuahuana* y *Pinus gurangesis*. (J. Valderrama, Ed.) *Información Tecnológica*, Vol. 3(Nº1), pp. 39-42.
- Salunkhe, D. & Kadam, S. (1995). *Handbook of Fruit Science and Technology: Production, composition, storage and processing*. United States of America: CRC Press.
- Tapia, M.; Pérez, B.; Cavazos, J. & Mayett, Y. (2013). Obtención de Aceite de la Semilla de Mango Manila (*Mangifera Indica* L.) como una Alternativa para Aprovechar Subproductos Agroindustriales en Regiones Tropicales. *Revista Mexicana de Agronegocios*, vol. XVII(num.32), pp. 258-266.
- Terranova. (1995). Producción agrícola. *Enciclopedia agropecuaria*, pp. 2013-2014.
- Trujillo, F. (1987). *Métodos matemáticos en la nutrición animal*. México: McGraw-Hill.
- Vargas, E. & Murillo, M. (1978). Composición química de subproductos de trigo y arroz de granos. *Agronomía Costrarricense*, pp. 9- 15.
- Villagran, E., Cuello S. (2008). Curso de curtido ecologico y artesanal de cueros. *INTA E.E.A. La Rioja - Área de Desarrollo Rural*, 22.

IX. ANEXOS



Figura 9.1: Extractor para determinar fibra cruda VLP



Figura 9.2: Balanza de precisión



Figura 9.3: Balanza de precisión



Figura 9.4: Mufla 6000 Furnace



Figura 9.5: Thermostatic Oven



**Figura 9.6: Plancha de calefacción
CORNING**



Figura 9.7: Deseccador

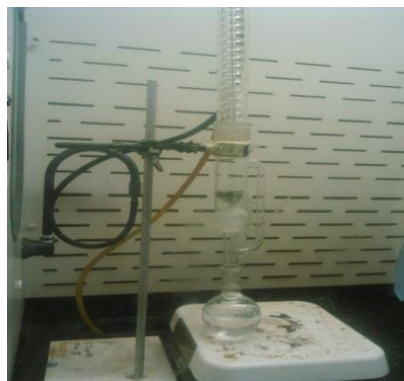


Figura 9.8 Soxhelt

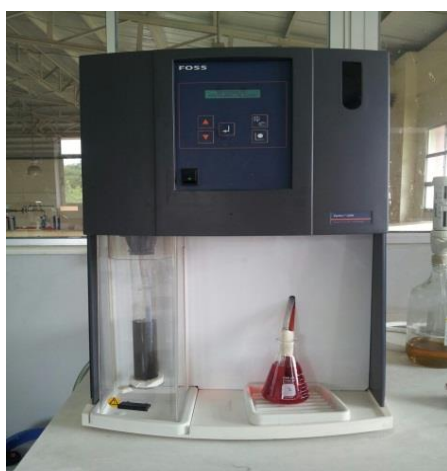


Figura 9.9 kjeldahl

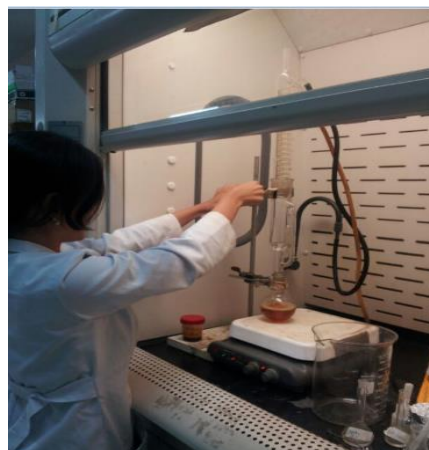


Figura 9.10 Destilación del alcohol para concentrar los taninos extraído



Figura 9.11 Concentrado tánico obtenido

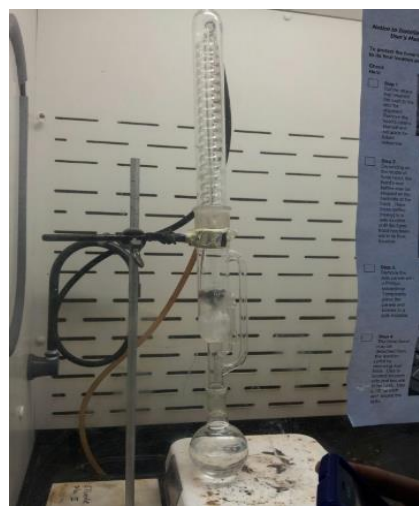


Figura 9.12 Extracción de grasa con Soxhlet

MÉTODOS BROMATOLÓGICOS APROBADOS POR LA A.O.A.C.

Determinación de grasa cruda

Determinación de grasa (Official Methods of Analysis A.O.A.C. 15th Edition U.S.A. (1990):

Reactivos:

Eter etílico P.E. 40-60°C

Eter de petróleo P.E. 40-60°C

Preparación de la muestra:

En muestras con mucha humedad homogeneizar y secar a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ en estufa de aire considerando el tipo de muestra. Moler y pasar por tamiz de malla 1 mm luego pesar en duplicado 2 a 5 gramos de muestra preparada en el dedal de extracción o papel filtro previamente pesado y tapado con algodón desgrasado. Registrar “m”.

Secar el matraz de extracción por 30 min a $103 \pm 2^\circ\text{C}$. Pesar el matraz de extracción y registrar “m₁”. Poner el matraz de extracción en el sistema soxhlet el dedal en el tubo de extracción y adicionar el solvente al matraz.

Extraer la muestra con el solvente por 6 a 8 horas a una velocidad de condensación de 3-6 gotas/ segundo. Una vez terminada la extracción eliminar el solvente por evaporación en rotavapor o baño María bajo campana. Hasta que no se detecte olor a éter. Secar el matraz con la grasa en estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ por 10 min, enfriar en desecador y pesar. Registrar “m₂”

Cálculos

$$\%grasa\ cruda = \frac{m_2 - m_1}{m} * 100$$

Donde:

m: peso de la muestra

m₁: tara de matraz solo

m₂: peso matraz con grasa

$$\%grasa\ cruda\ en\ base\ seca = \%grasa\ cruda * \frac{100}{100 - \% humedad}$$

Donde:

m: peso de la muestra

m₁: tara de matraz solo

m₂: peso matraz con grasa

Los resultados se informaran en % de materia grasa en base seca o húmeda. Promediar los valores obtenidos y expresar el resultado con 2 decimales.

Repetibilidad: La diferencia de los 2 resultados no debe ser superior al 2% del promedio.

Determinación de humedad

Determinación de humedad (Método Indirecto: A.O.A.C., 925.10, 1990.):

Pesar exactamente alrededor de 2 gramos de muestra en pesafiltro con tapa, previamente calentado a $103 \pm 3^{\circ}\text{C}$, enfriado a temperatura ambiente en desecador y pesado. Destapar el pesafiltro y secarlo con su contenido y la tapa durante 1 hora en estufa provista de abertura de ventilación a $103 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (el periodo de secado de 1 hora comienza cuando la temperatura de estufa es realmente 103°C). Cubrir el pesafiltro dentro de la estufa, pasar a desecador, destapar allí y pesar tapado en cuanto llegue a temperatura ambiente.

Informar la pérdida de peso como % de humedad.

Nota: es importante que se respete el tiempo de una hora y que durante el mismo NO SE ABRA LA ESTUFA.

Determinación de cenizas

Determinación de cenizas (Método directo: A.O.A.C., 923.03, 1990.):

Pesar de 3 a 5 gramos de muestra bien mezclada en una capsula de 6 cm de diámetro, previamente calcinada hasta peso constante en mufla a 550°C . Incinerar sobre tela de amianto hasta carbonización y luego en mufla a 550°C . Enfriar en desecador hasta llegar a peso constante.

El resultado se expresa en % de sustancia seca.

Nota 1: Si las cenizas quedan con trazas de carbón, humedecerlas con 3-4 gotas de agua, romper las partículas de carbón con una varilla de punta chata, enjuagarla y evaporar cuidadosamente a sequedad sobre un triángulo colocado sobre la tela metálica, antes de calcinar.

Nota 2: Esta determinación debe de realizarse por duplicado. Para informar considerar ambos duplicados y evaluar la reproducibilidad (el error relativo debe de ser menor del 3%).

Determinación de proteínas totales

Determinación de proteínas totales (Método de Kjeldahl- Arnold- Gunning, A.O.A.C., 928.08, 1990):

Reactivos:

K_2SO_4 p.a ó NaSO_4 p.a

CuSO_4 concentrado

Solución H_2SO_4 0.1N valorado

Soluciones concentradas de NaOH (40 o 45%)

Soluciones NaOH 0.1N valorada

Solución de rojo de metilo en etanol (0.5% p/v).

Etapas de digestión:

Pesar 0.5-0.75 gr de muestra (de acuerdo al contenido estimado de nitrógeno) en un trozo de papel satinado. Envolver y dejar caer en un tubo de digestión de Kjeldahl. Agregar 6 gr de NaSO_4 , 0.3 de CuSO_4 (aproximadamente 0.8 gr $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) y 12 ml de H_2SO_4 concentrado. Siga las instrucciones del equipo para digerir la muestra, utilizando las siguientes condiciones:

1° paso: 125°C – 30 minutos

2° paso: 270°C – 30 minutos

3° paso: 400°C – 120 minutos

Etapas de destilación:

Dejar enfriar el tubo de digestión a temperatura ambiente y agregar aproximadamente 20 ml de agua (cuidado con la violencia de la reacción). Colocar exactamente 50 ml de H_2SO_4 0.1N valorado en un Erlenmeyer de 500 ml y agregar 4 ó 5 gotas de rojo de metilo. Realizar la destilación de acuerdo con las instrucciones del equipo.

El destilado de titula con solución de NaOH 0.1N valorado.

Factores para la conversión de N a proteína:

Carne: 6.25 (es el más empleado si se desconoce la procedencia de la proteína)

Leche: 6.38

Gelatina: 5.55

Trigo y vegetales en general: 5.7

Arroz: 5.85

Huevos: 6.68

Determinación de fibra cruda

Determinación de fibra cruda (A.O.A.C. 926.09, 1990):

Para determinar la cantidad de fibra cruda, primero se debe de efectuar una extracción con éter (Igual a la descrita en grasa cruda). Luego se calienta la muestra hasta ebullición por 30 min, en 200 ml de una solución de ácido sulfúrico (0.13M). Se filtra y se lava con 400 ml agua hirviendo. Se vuelve a calentar hasta ebullición y se lava con 400 ml de NaOH 0.13 M libre de carbonatos. Se filtra y se lava con agua hirviendo. El filtrado resultante se seca en estufa por 1 hr a 100°C, se pesa, se calcina, se deja enfriar en desecador y se pesa.

El peso de fibra cruda es la diferencia de peso entre el filtrado seco y calcinado.

$$\%FC = \frac{\text{peso de fibra cruda}}{\text{peso de la muestra}} * 100$$

Determinación de carbohidratos

Se calcula como la cantidad necesaria para completar el 100%

$$\begin{aligned} \%carbohidrato \\ = 100 - \%proteína - \%fibra\ cruda - \%cenizas - \%humedad \\ - \%grasa\ cruda \end{aligned}$$

$$\%proteína = \%N * F$$

$$\%N = \frac{[(ml\ gastado_{muestra} - ml\ gastado_{blanco}) * N_{HCl} * 14.007 * 100]}{mg_{muestra}}$$

$$F = 6.25$$

$$N_{HCl} = 0.1065$$

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE MACRONUTRIENTES

Determinación de la dureza cálcica con murexina

Reactivos a utilizar:

NaOH 1N

Murexina

CaCO₃ 1000 ppm

EDTA – disódico (Na₂H₂ y 2H₂O) 0.01M

Tomar 50 ml de la muestra, transferir cuantitativamente a un erlenmeyer de 250 ml agregar 2 ml de NaOH 1N, agitar uniformemente y dejar reposar por un minuto. Agregar de 0.1 a 0.2 gramos de murexina, agitar para disolver uniformemente y luego titular con EDTA.

$$\text{Dureza cálcica} = \frac{A \times F \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$

$A = \text{ml de EDTA gastados en la muestra} - \text{ml de EDTA gastados en el blanco}$

$$F = \frac{\text{Volumen de solución de CaCO}_3 \text{ titulada}}{\text{Volumen de EDTA gastado en la titulación}}$$

Nota: El volumen del blanco debe de ser igual al volumen de la muestra.

Determinación de fósforo

Según Cuervo (1993) para los análisis de fósforo se deben de seguir los siguientes pasos y utilizar los siguientes reactivos:

Reactivos:

Persulfato de amonio

Ácido sulfúrico concentrado (36 N)

Hidróxido de sodio 1M

Ácido sulfúrico 0.5 M

Molibdato amónico

Matavanadato de amonio

KH₂PO₄ anhidro

Fenolftaleína

HCl 1:1

Digestión de la muestra:

Tomar 50 ml de la muestra en un recipiente termoresistente y añadir 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y 0.4 g de Persulfato de amonio sólido. Llevarlo a ebullición en la plancha de calentamiento, reduciendo su volumen hasta unos 10 ml.

Alcalinizar la muestra después de enfriar a temperatura ambiente, con NaOH 1M hasta pH 7.5- 8.0. Ajustar el pH, si es necesario, con ácido sulfúrico 0.5 M.

Enrasar la muestra a un total de 50 ml con agua destilada.

Una vez realizada la digestión puedes analizar la muestra usando el método del ácido fosfovanadomolibdico.

Método de fosfovanadomolibdico

En una solución diluida de ortofosfato, el molibdato amónico reacciona en condiciones ácidas para formar un heteropoliácido, ácido molibdofosfórico. En presencia de vanadio forma vanadomolibdofosfórico amarillo. La intensidad del color amarillo es proporcional en la concentración de fosfatos. Los reactivos se preparan de la siguiente forma:

- a. Reactivo Vanadato- Molibdato: para este reactivo compuesto se preparan dos soluciones:

Solución A: Se disuelven 25 g de molibdato amónico, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en 300 ml de agua destilada.

Solución B: Se disuelven 1,25 g de metavanadato de amonio, NH_4VO_3 , calentado hasta ebullición en 300 ml de agua destilada. Dejar enfriar y añadir 330 ml de HCl concentrado.

Una vez enfriada la solución B a temperatura ambiente, verter la solución A sobre la B, mezclar y diluir a 1 L.

- b. Reactivo para curva de fósforo

Disolver 219.5 mg de KH_2PO_4 anhidro en agua destilada y diluir a 1000 ml, donde 1 ml. Equivale a una concentración de $50.0 \mu\text{g}$ de $\text{PO}_4^{-3}\text{-P}$

Se deben de realizar los siguientes pasos previos para eliminar interferencia y conservar la muestra:

Ajustar el pH de la muestra: Si el pH de la muestra es mayor de 10, añadir una gota de indicador de fenolftaleína a 50 ml de muestra y decolorar el color rojo con HCl 1:1 antes de diluir a 100 ml.

Eliminar el color de la muestra: Eliminar el excesivo color de la muestra agitando unos 50 ml con 200 mg de carbón activado en un erlenmeyer durante 5 minutos y filtrado para eliminar el carbón. Comprobar los fosfatos de cada lote de carbón porque algunos producen blancos con muchos reactivos.

Desarrollo de color en la muestra: Pon 35 ml de muestra o menos que contengan 0.05 a 1.0 mg P, en un matraz aforado de 50 ml. Adicionar 10 ml de reactivo vanadato- molibdato y diluir hasta la marca de 50 ml con agua destilada. Se debe preparar un blanco con 35 ml agua destilada en lugar de la muestra. A cabo de 10 minutos o más, medir la absorbancia de la muestra frente a un blanco a longitud de onda de 400 a 490 nm en función de la sensibilidad deseada.

Preparación de la curva de calibrado: Se debe de preparar una curva de calibrado utilizando volúmenes adecuados de solución patrón de fosfato y procediendo como el apartado anterior. Cuando el ion Fe^{3+} sea suficiente bajo para no interferir, elaborar un conjunto de rectas de calibrado de una serie de soluciones patrón para varias longitudes de onda. Esta acción permite una amplia gama de concentraciones en una serie de determinaciones. Analizar al menos un patrón con cada juego de muestras

Volúmenes y contenidos de fósforo en los patrones para curva de calibración:

Soluciones de patrón de fósforo: 50 mg/L		
ml	P (μg)	P (mg)
0	0	0
2	100	0.1
4	200	0.2
6	300	0.3
8	400	0.4
10	500	0.5
12	600	0.6
14	700	0.7
16	800	0.8
18	900	0.9
20	1000	1.0
22	1200	1.1
25	1250	1.25

Expresión de resultados: Para determinar la concentración de P expresado en mg/L se aplica el siguiente cálculo:

$$\frac{\text{mg}}{\text{L}} \text{ P} = \frac{\text{mg de P (en 50 ml de volumen final)} \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$